

Células Caki-2 | 300140**Informações gerais****Description**

Caki-2 é uma linha celular de carcinoma de células renais de células claras (ccRCC) humano que exibe morfologia epitelial e adere em condições de cultura in vitro. Constitui um modelo pré-clínico essencial para a investigação dos mecanismos do cancro renal e das respostas terapêuticas. A linha Caki-2 é particularmente notável pela sua resistência a certos agentes quimioterapêuticos; apresenta uma sensibilidade reduzida ao 5-fluorouracil e ao inibidor multi-quinase sorafenib, que tem como alvo os VEGFRs 1-3, PDGFR-b e Raf-1, em comparação com a linha celular Caki-1. Esta sensibilidade diferencial é importante para o estudo dos mecanismos de resistência aos medicamentos e para a avaliação de novas estratégias terapêuticas no carcinoma de células renais.

O contexto genético das células Caki-2 inclui uma mutação de perda de função na proteína supressora de tumor von Hippel-Lindau (VHL), uma característica de muitos ccRCCs que leva à desregulação dos factores indutores de hipóxia (HIFs) e contribui para a tumorigénese. A capacidade das células Caki-2 para formar tumores em ratinhos imunocomprometidos torna-as uma ferramenta valiosa para estudos in vivo do crescimento do cancro e das metástases, fornecendo informações sobre o ambiente tumoral e potenciais intervenções terapêuticas. A sua utilização estende-se à exploração do papel da VHL na progressão do cancro e ao teste da eficácia de medicamentos que visam a via HIF e outras cascatas de sinalização associadas numa configuração experimental controlada.

Organism Humano**Tissue** Rim**Disease** Carcinoma papilar**Synonyms** CAKI-2, CaKi-2, caki-2, CAKI 2, Caki 2, Caki2, CAKI2**Caraterísticas****Age** 69 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** De tipo epitelial. As caraterísticas ultra-estruturais incluem microvilosidades e microfilamentos. Poucas mitocôndrias, lisossomas ou gotículas lipídicas. Corpos multilamelares frequentes. Ausência de partículas de vírus.**Growth properties** Monocamada, aderente

Células Caki-2 | 300140**Dados regulamentares**

Citation	Caki-2 (número de catálogo Cytion 300140)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0235

Dados biomoleculares

Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Produto de frequência fenotípica: 0.0511
Tumorigenic	Sim, em ratinhos nus. Forma um carcinoma de células claras
Karyotype	(P8) hipopentaplóide a hipohexaplóide (+A2, +A3, +B, +C, +D, +F, +G, -A) com anomalias incluindo dicêntricos, fragmentos acrocêntricos, minutos, quebras e grandes marcadores subtelocêntricos

Manuseamento

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820700a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	1 x 10 ⁴ células/cm ² resultará numa monocamada 90% confluenta em cerca de 4 dias.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

Células Caki-2 | 300140

Post-Thaw Recovery

Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células Caki-2 | 300140

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.